



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **05268874 A**(43) Date of publication of application: **19.10.93**

(51) Int. Cl.

**A23C 9/127**(21) Application number: **04100300**(22) Date of filing: **27.03.92**(71) Applicant: **GLYCO KYODO NYUGYO KK**(72) Inventor: **FUJINAGA SHIGEO  
KOJIMA SETSURO  
TAKIZAWA SATORU****(54) PRODUCTION OF FERMENTED MILK AND DRINK  
CONTAINING LACTIC ACID BACTERIA****(57) Abstract:**

**PURPOSE:** To produce fermented milk and drink of lactic acid bacteria free from water separation and whey separation even without isolately adding a stabilizer and a thickening agent to a fermentation substrate.

**CONSTITUTION:** Fermented milk and drink of lactic acid bacteria not causing water separation and whey separation can be produced by using lactic acid bacillus No.14 strain capable of producing a large amount of a viscous substance of polysaccharide having succeeded in

separation from kefir granules by an original method and acclimation in a milk medium even without isolately adding a stabilizer, etc. The strain is discovered to have symbiotic relationship with lactic acid bacteria such as *Streptococcus thermophilus*. By taking advantage of the symbiotic relationship, the number of the No.14 strain can be increased without isolately enriching a fermentation substrate with a nutritive source such as yeast extract. Consequently, products free from water separation and whey separation can be produced without damaging essential taste of fermented milk or drink of lactic acid bacteria due to addition of yeast extract, etc.

COPYRIGHT: (C)1993,JPO&amp;Japio

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-268874

(43) 公開日 平成5年(1993)10月19日

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

A 2 3 C 9/127

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平4-100300

(22) 出願日 平成4年(1992)3月27日

(71) 出願人 390001270

グリコ協同乳業株式会社

東京都昭島市武蔵野2丁目14番1号

(72) 発明者 藤永 重雄

東京都福生市熊川250-2

(72) 発明者 小島 節朗

東京都小平市鈴木町1-166-3

(72) 発明者 瀧澤 悟

東京都小平市津田町3-30-39

(54) 【発明の名称】 発酵乳及び乳酸菌飲料の製造方法

(57) 【要約】

【目的】 発酵基質に別途安定剤や増粘剤を添加しなくとも、離水・ホエー分離の起こらない発酵乳及び乳酸菌飲料を製造すること。

【構成】 ケフィア顆粒から独自の方法で分離し、乳培地で生育できるように馴化することに成功した多糖質粘性物質を多量に発酵基質中に生成する乳酸桿菌No. 14菌株を使用すると別途安定剤等を添加しなくとも、離水・ホエー分離が起こらない発酵乳及び乳酸菌飲料の製造が可能である。本菌株がストレプトコッカス・サーモフィラスなどの乳酸菌との間に共生関係があることを発見した。この共生関係を利用することによりNo. 14菌株を発酵基質に別途酵母エキスなどの栄養源を強化することなく菌株を増加させることができる。その結果、酵母エキスなどの添加による発酵乳及び乳酸菌飲料の本来の風味を損なうことなく離水・ホエー分離のない製品製造が可能となった。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ラクトバチルス属に属する乳酸桿菌No. 14菌株と本菌株と共生関係を有している乳酸菌を同時に使用して発酵することを特徴とする発酵乳及び乳酸菌飲料の製造方法

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は発酵乳及び乳酸菌飲料の製造に係わるものである。さらに詳細には、ラクトバチルス属に属するNo. 14菌株及びNo. 14菌株と共生関係にある乳酸菌の二菌株を同時に使用することにより、発酵基質中でのNo. 14菌株の菌数を増加させると同時に多量の多糖質粘性物質を産出させることによって、別途安定剤を添加しなくとも、製品取扱い中、輸送中あるいは販売中に起こりやすいホエー分離、離水現象が起こらない発酵乳及び乳酸菌飲料を工業的に有利に製造することを目的としたものである。

## 【0002】

【従来の技術及び問題点】発酵乳及び乳酸菌飲料の製造方法には各種の方法が知られている。発酵乳でいえば一般的には以下の方法で製造されている。すなわち、原料として乳等を主原料とする発酵基質にペクチン、ゼラチン等の安定剤及び砂糖を添加し、要すれば香料や果汁等の風味原料を添加し、これを常法通りに殺菌・均質化処理をなし、乳酸菌及び又は酵母スターターを2〜3%接種して容器に充填密封した後40〜45℃にて発酵させ、所定の酸度に達したならば、10℃以下に冷却して発酵を停止させ製品とするものである。液状の発酵乳及び乳酸菌飲料にあつては、同様な発酵基質に乳酸菌及び又は酵母スターターを2〜3%接種した後、40〜45℃にて所定の乳酸酸度までタンクで発酵し、10℃以下に冷却した後均質機等でカードを破碎し液状となして、容器に充填密封して製品とするものである。乳酸菌飲料の場合は、発酵基質の乳固形分を少なくするか、別途準備した糖質や安定剤等を溶解した殺菌済み溶液で希釈して乳固形分を減少させて製造している。前述の様に発酵乳製造においては、製品取扱中あるいはその後の流通において起こりやすいホエー分離、離水現象を防止する目的で、ペクチン等の多糖質あるいはゼラチン等のタンパク質を安定剤又は増粘剤として一般に使用している。液状の発酵乳及び乳酸菌飲料にあつては、安定剤又は増粘剤を使用しないと確実にホエー分離、離水現象が認められるので、それらの使用は製造上必須とされている。ペクチン等の多糖質あるいはゼラチン等の蛋白質も天然物とはいえ、発酵乳、乳酸菌飲料、牛乳あるいは乳酸菌とは縁の遠い海藻あるいは動物由来の食品添加物であり、健康イメージと結び付いた発酵乳及び乳酸菌飲料に使用するのマイナスイメージである。本発明はこのような課題に答えることを目的とし、新たに分離、培養に成功した多糖質粘性物質を生成するラクトバチルスに属する乳酸桿菌

No. 14菌株と本菌株と共生関係を有する乳酸菌を併用して発酵乳又は乳酸菌飲料の発酵に使用し、別途安定剤又は増粘剤を添加しなくともホエー分離、離水現象のない製品を製造する方法を見出すことにある。

## 【0003】

【問題点を解決するための手段】以上の様な課題に答えるべく、発明者は鋭意研究を重ねた結果、本発明を完成したものである。すなわち、新たに分離・培養及び乳培地中での馴化に成功した乳酸桿菌No. 14菌株がある種の乳酸菌、たとえばストレプトコッカス・サーモフィラスと共生関係を有していることを見出したものである。この共生関係を利用することにより、乳酸桿菌No. 14菌株が乳培地中での乳酸産生及び成育が遅いことに起因する、①発酵に長時間を要する。②雑菌汚染の可能性が高くなるといった難点を容易に解決できるものである。

【0004】乳酸桿菌No. 14菌株は、ケフィアグレインと呼ばれる顆粒（デンマーク・クリスチャンハンセン社より入手）から新たに分離した乳酸菌であり菌学的な性質は表1に示した。本菌株は工業技術院微生物工業技術研究所に微工研菌寄第10196（FERM P-10196）として寄託されている。

## 【0005】

【表1】No. 14菌株の菌学的性質

グラム染色		陽性
胞子形成		なし
運動性		なし
好気条件下での生育		+
嫌気条件下での生育		+
カタラーゼの生育		-
生成乳酸		DL (D)
15℃での生育		±
20℃での生育		+
40℃での生育		+
45℃での生育		±
アルギニンからのアンモニアの生成		-
グルコースからのガス産生		-
グルコネートからのガス産生		-
糖の資化性；		
アミグタリン	+	セロビオース -
フラクトース	+	エスクリン -
ガラクトース	+	グルコネート -
グルコース	+	マンニット -
ラクトース	+	メレチトース -
マルトース	+	ラムノース -
マンノース	+	リボース -
メリピオース	+	サリシン -
ラフィノース	+	ソルビトール -
サッカロース	+	トレハロース -
アラビノース	-	キシロース -

【0006】本菌株は通常の培地には生育せず、発明者が新たに考案したGMR培地を使用することによってのみ、ケフィア顆粒から容易に分離することができる。表2にその培地組成を示した。

【0007】

【表2】GMR培地組成

チーズホエイ	100ml
トリプチケースペプトン (BBL)	0.5g
トリプトン (Difco)	0.5g
酵母エキス (Difco)	0.5g
トウイーン80	0.1ml
リン酸-カリウム	0.5g
酢酸ナトリウム三水合物	0.5g
クエン酸三アンモニウム	0.2g
硫酸マグネシウム七水和物	0.058g
硫酸マンガン四-六水和物	0.028g
pH	5.5

【0008】すなわち、ケフィア顆粒を滅菌した乳鉢で磨砕した後、滅菌生理食塩水で適当に希釈し、その0.1mlをGMR平板に塗抹して、炭酸ガス置換嫌気培養法により、30℃にて3～5日間培養することにより主菌叢として分離することができる。分離当初、乳酸桿菌No. 14菌株は、乳培地（無脂乳固形分10%の還元脱脂粉乳培地）での生育が全く認められなかったが、以下に示す方法で乳培地に馴化することに成功し、発酵のスターターとして使用できる様に馴化した菌株である。すなわち、乳酸桿菌No. 14菌株は、酵母エキスを0.1%強化した乳培地では30℃にて静置培養した場合\*

ストレプトコッカス・サーモフィラスとNo. 14菌株の共生関係

乳酸酸度 (%)	総菌数	
	ストレプトコッカス サーモフィラス	No. 14菌株
① 0.62	1200	
② 0.30		100
③ 1.05	1500	810

(単位 <10<sup>6</sup>/ml)

【0011】①は無脂乳固形分10%の還元脱脂粉乳を95℃にて30分間加熱殺菌した培地にストレプトコッカス・サーモフィラスのスターターを2.0%接種し、30℃にて17時間培養した。②は同様の培地にNo. 14菌株スターターを5.0%接種し30℃にて17時間培養した。③は同様の培地にストレプトコッカス・サーモフィラスのスターターを2.0%、No. 14菌株スターターを5.0%同時に接種し、30℃にて17時間培養した。以下実施例をもってその効果について説明する。

【0012】

\*合、7日目に乳培地の固化が認められる程度の生育能力を有していた。これをスターターとして、同様の酵母エキス0.1%強化乳培地に5% (v/v) 接種して、30℃にて静置培養した場合、やはり6～7日目に乳培地の固化が認められた。同様の条件で世代交代を続けたところ、10世代目あたりから3日後に乳培地の固化が認められる様になり、以後30世代以上継代することにより、30℃にて48時間静置培養すると、乳酸酸度1.30～1.50%、生菌数5×10<sup>8</sup>/ml、総菌数1.5×10<sup>9</sup>/mlが得られるまでに馴化することに成功した菌株である。

【0009】

【作用及び効果】No. 14菌株は乳培地に馴化した菌株とはいえ、乳培地中で育成させるためには酵母エキス等の栄養を強化した乳培地を使用する必要があるが、発酵乳及び乳酸菌飲料の発酵基質に酵母エキス等の栄養を強化すると、発酵乳及び乳酸菌飲料の本来の風味が損なわれるという欠点があるため実際の製造には不向きである。ところが、No. 14菌株と乳酸球菌ストレプトコッカス・サーモフィラスの様なNo. 14菌株と共生関係がある乳酸菌を乳培地中で共存させると、酵母エキス等の栄養源を別途強化しなくとも、No. 14菌株は乳培地中で良好に育成する。No. 14菌株とストレプトコッカス・サーモフィラスの共生関係の一例を表3に示したが、酸生成性、菌数増加ともに良好であることが明らかである。

【0010】

【表3】

【実施例】常法通り殺菌・均質化処理をした牛乳を発酵基質とし、同様に処理した牛乳にストレプトコッカス・サーモフィラスのスターターを1.0% (w/w)、ラクトバチルス・ブルガリカスのスターターを1.0% (w/w)、No. 14菌株スターターを5.0% (w/w) 接種し30℃にて17時間培養したものを3.0% (w/w) 接種し、攪拌均一後34℃にて静置発酵して乳酸酸度0.85%に到達した時点で攪拌冷却した。同時に、対照として同様に処理した牛乳にストレプトコッカス・サーモフィラスのスターターを1.0% (w/w)、ラクトバチルス・ブルガリカスのスターターを

5

1. 0% (w/w) 接種して30℃にて17時間培養したものを3.0% (w/w) 接種し、攪拌均一後34℃にて静置発酵して乳酸酸度0.85%に到達した時点で攪拌冷却した。ここに得られた2種類の発酵乳は共に風味良好であり、No. 14菌株を使用したものは対照に比べてかなり粘性を帯びていた。このものを均質機にて\*

## 液状発酵乳の保存テスト

保存日数	0日保存	7日保存	14日保存
No. 14	0	3	5
対照	0	14	22

〔注〕それぞれの液状発酵乳を80mmの高さになるように透明なmm目盛り付き容器に分注し、10℃にて保存した。表の数値は離水した距離を測定したものである。

【0014】

6

\*乳カードを破碎すると、共にさらった液状発酵乳となった。これをmm目盛りのついた小容器に分注して10℃にて2週間保存し、離水の状況を観察した。その結果を表4に示した。

【0013】

【表4】

(単位mm)

【発明の効果】表4から明らかなように、別途安定剤を加えていないにもかかわらず、No. 14菌株を使用した液状発酵乳ではほとんど離水が認められないのに比べ、対照の液状発酵乳は約30%の離水が認められた。